HISTAMINBILDUNG IN DER MAGENSCHLEIMHAUT DES MENSCHEN UND VERSCHIEDENER SÄUGETIERE UND MAGENSAFTSEKRETION

DURCH HISTAMINFREISETZUNG BEIM MENSCHEN

Stefan Halbach

1971

Aus dem Klinisch-Chemischen Institut
an der Chirurgischen Universitätsklinik
München
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Werle

HISTAMINBILDUNG IN DER MAGENSCHLEIMHAUT DES MENSCHEN UND VERSCHIEDENER SÄUGETIERE UND MAGENSAFTSEKRETION DURCH HISTAMINFREISETZUNG BEIM MENSCHEN

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Stefan Halbach
aus Wildenwart
1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. E. Werle
Mitberichterstatter: Privatdozent Dr. W. Lorenz
Dekan: Prof. Dr. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 16.3.1971

Fotodruck: Mikrokopie GmbH, 8 München 22, Bruderstraße 9

Meinen Eltern gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546003_0009

I N H A L T

A. THEORETISCHER TEIL

1) Fehlen der spezifischen Histidindecarboxylase in der Magenschleimhaut bei verschiedenen Säugerarten 2

2) Die Hypothese von Histamin als finalem Chemostimulator der Magensaftsekretion 8

a) Gastrininduzierte Magensaftsekretion 8

b) Vagal induzierte Magensaftsekretion 11

3) Histaminfreisetzung in den Magensaft 13

B. EXPERIMENTELLER TEIL

I. ZIEL DER ARBEIT 14

II. METHODIK 15

1) Untersuchung der Histidindecarboxylasen 15

a) Gewebs- und Enzymmaterial, Substanzen..... 15

b) Ansätze zur Bestimmung der Histidindecarboxylase, Histaminbestimmung 16

c) Histidin- und Proteinbestimmung 18

d) Kontrollwerte und Definitionen 18

2) Nachweis der Histaminfreisetzung durch Propanidid 19

a) Probanden 20

b) Parameter der Histaminfreisetzung 20

III. ERGEBNISSE

1) Nachweis, Bestimmung und Eigenschaften der spezifischen Histidindecarboxylase der Magenschleimhaut 22

1.1.) Bestimmung der spezifischen Histidindecarboxylase 22

a) Versuche zur Hemmung der Histamininaktivierung im Ansatz während der Reaktion 22

b) Ermittlung des Reaktionsverlaufs 23

1.2.) Aktivitäten und Verteilung der spezifischen Histidindecarboxylase in der Magenschleimhaut 23

1.3.) Eigenschaften der spezifischen Histidindecarboxylase der Magenschleimhaut 30

1.4.) Anreicherung der spezifischen Histidindecarboxylase im Meerschweinchenmagen 37

2) Histaminliberierung durch Propanidid beim Menschen 38

IV. DISKUSSION

1) Eigenschaften und physiologische Bedeutung der Histidindecarboxylasen 45

1.1.) Zur physiologischen Bedeutung der spezifischen Histidindecarboxylase der Magenschleimhaut 45

1.2.) Induktion und Adaptation der Histidindecarboxylase 46

1.3. Zur Frage von Isoenzymen der Histidindecarboxylase 47

2) Zur Anwendung des Kurzzeitnarkotikums Propanidid 49

3) Modellvorstellung über den Wirkungsmechanismus von Histamin bei der Magensaftsekretion 49

V. ZUSAMMENFASSUNG 52

VI. LITERATUR 54

THEORETISCHER TEIL

Zu Beginn dieses Jahrhunderts wurde Histamin als Naturstoff durch Ackermann (1) und Barger und Dale (9) aufgefunden. Seitdem hat die Literatur darüber einen kaum noch überschaubaren Umfang angenommen. An pharmakologischen Wirkungen zeigt Histamin die Stimulierung der Sekretion exokriner Drüsen, Erregung glatter Muskulatur, sowie Blutdrucksenkung im peripheren Kreislauf. Ob diesen Effekten physiologische Funktionen des Histamins entsprechen, erscheint bis heute nicht vollständig geklärt, und zwar aus folgenden Gründen:

1.) Das ubiquitäre Vorkommen von Histamin (28) steht dem auf bestimmte Organe oder Speicherorte begrenzten anderer Wirkstoffe, z.B. der Hormone, gegenüber. Es sind deshalb auch keine Ausfallserscheinungen, wie z.B. nach Entfernung einer endokrinen Drüse, zu erwarten. Versuche in dieser Richtung, nämlich durch histidin- oder histaminarme Diät, Histaminfreisetzung und spezifische Hemmung der Histaminbildung ein "histaminfreies" Tier zu erzeugen, verliefen bisher erfolglos (5).

2.) Die Enzyme des Histaminstoffwechsels wurden bisher nur bei der Ratte genauer erforscht. Eine Übertragung der an dieser Spezies gewonnenen Ergebnisse auf andere Arten oder gar auf den Menschen erscheint aber fragwürdig, da die Ratte im Histaminstoffwechsel viele Besonderheiten aufweist.

3.) Schließlich hemmen die Antihistaminica, nur mehr oder weniger spezifische Antagonisten des Histamins, nicht alle Histaminwirkungen. Z.B. lassen sie die Stimulierung der Magensaftsekretion (39) oder die Steigerung des Herz-Minutenvolumens und Erhöhung des aortalen Blutdrucks (11,12) unbeeinflußt.

Die meisten Ergebnisse, die für eine physiologische Funktion des Histamins sprechen, wurden bisher am Magen erarbeitet (7,18,20). Die Probleme, die bei der Ratte eine positive Lösung fanden, sind eben für den Menschen und andere Säuger noch ungelöst:

a) gibt es eine spezifische Histidindecarboxylase bei einigen Säugerarten?
b) wie wirkt sich der Einfluß des N. vagus, bzw. des Acetylcholins bei der finalen Chemostimulation der Magensaftsekretion aus?
c) erfolgt eine Histaminfreisetzung in den Magensaft?

1.) <u>Fehlen einer spezifischen Histidindecarboxylase bei verschiedenen Spezies:</u>

Histamin entsteht im Säugetierorganismus durch Decarboxylierung von L-Histidin. Katalysatoren sind Histidindecarboxylasen (L-Histidincarboxylyasen, E C 4.1.1.22) (37,93,94), eine spezifische Histidindecarboxylase (spez.HDC),die nur Histidin umsetzt, und eine unspezifische Histidindecarboxylase (unspez. HDC), die alle

natürlich vorkommenden aromatischen Aminosäuren umsetzen soll (92).

Der unspezifischen Histidindecarboxylase wurde bisher für die Histaminbildung in vivo wegen ihrer relativ hohen Michaeliskonstante für Histidin keine Bedeutung beigemessen, jedoch zu unrecht, wie Versuche von Schayer und Sestokas (70) mit Meerschweinchenniere zeigten. Sie konnten eine starke Histaminbildung in vivo durch dieses Enzym anhand der Abnahme des Histamins im Urin nach α-Methyldopa nachweisen.

Die spezifische Histidindecarboxylase wurde von Kahlson et al. (41,42) mit einer Isotopenmethode in der Magenschleimhaut von Mensch, Hund, Katze, Meerschweinchen und Maus bestimmt, nachdem sie bis dahin nur im Rattenmagen nachgewiesen worden war (71). Lorenz et al. (51,52,) konnten durch verbesserte Inkubationsbedingungen (51,53) zusätzlich bei Affe, Kaninchen und Schwein die spezifische Histidindecarboxylase fluorometrisch messen.

Histamin wird durch folgende Enzyme inaktiviert (Abb.1):

I. Diaminoxydase (Histaminase). Bisher nahm man an, Histamin werde im Magen nicht abgebaut, da die Diaminoxydase (Diamin: O_2 - Oxydoreduktase (DAO) E C 1.4.3.6) im Magengewebe der meisten Säugetiere nicht gefunden

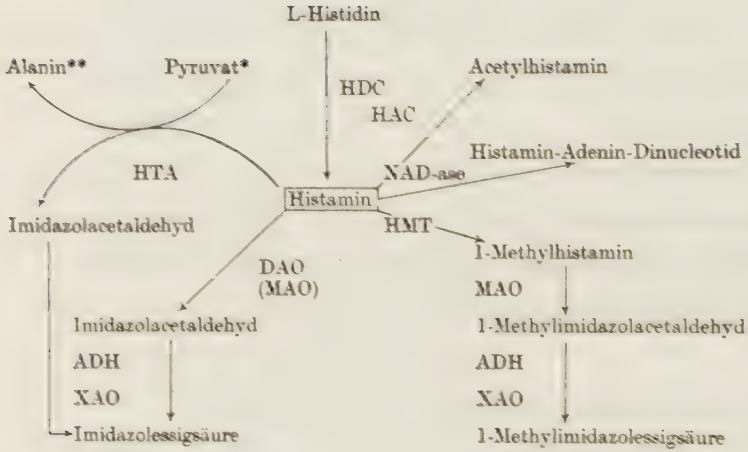

Abb. 1

Histaminstoffwechsel im Säugerorganismus.

Abkürzungen: HDC Histidindecarboxylase; HAC Histamintransacetylase; NAD-ase Diphosphopyridinnucleotidase; HMT Histaminmethyltransferase; MAO Monoaminoxydase; ADH Alkoholdehydrogenase; XAO Xanthinoxydase; DAO Diaminoxydase; HTA Histamintransaminase. * Pyruvat = Pyruvat, Phenylpruvat, p-Hydroxyphenylpyruvat; ** Alanin = Alanin, Phenylalanin, Tyrosin.

wurde. Ihr Vorhandensein wurde aber bei der Ratte (44), beim Meerschweinchen (25,93) und beim Kaninchen (93,94) nachgewiesen. Sie fehlt im Hundemagen und im Katzenmagen oder ist dort nur in äußerst geringer Aktivität nachweisbar (13,25,43). Im Froschmagen ließ sich das Enzym dagegen messen (39).

II. Histaminmethyltransferase und Monoaminoxydase.

Den größten Teil am Histaminumsatz im Organismus bei Mensch, Hund, Katze und Maus nimmt die Histaminmethyltransferase ein, die das ß-Imidazoläthylamin am Ring in Stellung 1 methyliert (15,16,48,65,68,69,72,82,83). Bei Meerschweinchen und Kaninchen sind Methylierung und oxydative Desaminierung durch Diaminoxydase etwa gleich stark (68,73). Die Ratte baut Histamin hauptsächlich durch die Diaminoxydase ab (69).

Diese durch Schayer bereits 1959 zusammengefaßten Ergebnisse (68) zeigen, daß Histamin im Magen vorwiegend durch die Methyltransferase und nicht durch Diaminoxydase umgesetzt wird, da bei vielen Species die Aktivität der erstgenannten im Magengewebe relativ zu anderen Organen am höchsten ist. Eine deutliche Methylierung von Histamin im Menschenmagen wurde nur beim Feten nachgewiesen (49), während sie beim Erwachsenen noch nicht untersucht wurde.

Die Monoaminoxydase (Monoamin : O_2 - Oxydoreduktase (MAO) E c 1.4.3.4) katalysiert den weiteren Umsatz von Methylhistamin zu Methylimidazolessigsäure (MIAA). Histamin selbst wird auch von Monoaminoxydasen oxydativ desaminiert, doch wesentlich langsamer als 1-Methylhistamin (66).

III. Weitere Wege des Histaminumsatzes.

Lorenz et al. (51) fanden im Meerschweinchenmagen nach Hemmung der Diaminoxydase und der Histaminmethyltransferase noch einen starken Histaminumsatz. Im Magen der Ratte wird Histamin nach Kobayashi und Ivy (44) zu 88% von der Diaminoxydase und zu 12% von anderen Enzymen umgesetzt. Da im Magen dieser Species die Histaminmethyltransferase fehlt (15), beruht dieser Umsatz ebenso wie beim Meerschweinchen mit großer Wahrscheinlichkeit auf Reaktionen, von denen drei in vivo Interesse verdienen: Histaminnucleotidbildung (3), Transaminierung (38) und Acetylierung (86).

Der Nachweis der Histamintransacetylase gelang bis jetzt nur in der Leber von Kaninchen und Schweinen, während man sie im Magen noch nicht untersuchte. Acetylhistamin, das im Urin während der Verdauung auftritt, stammt nicht aus der Magenschleimhaut, sondern aus dem Darm und entsteht durch die Tätigkeit von Bakterien (80).

Die Transaminierung von Histamin wurde in zahlreichen Organen von Kaninchen, Ratte und Meerschweinchen nachgewiesen (38), außer im Magengewebe, wo sie noch nicht untersucht wurde.

Dagegen kommt der Histamin-Nucleotidbildung im Magen eine große Bedeutung zu. Wie Beaven et al. (10) zeigen konnten, entsteht bei i.v. Applikationen von ^{3}H-markiertem Histamin im Magen der Ratte Histaminribosid als Hauptmetabolit, und zwar nach folgenden Reaktionen (3):

I. $\text{Nicotinamid}^{+} - R + \text{NAD-ase} \rightleftharpoons \text{NAD-ase}^{+} - R + \text{Nicotinamid}$

II. $\text{NAD-ase}^{+} - R + H_2O \longrightarrow OH - R + \text{NAD-ase} + H^{+}$

III. $\text{NAD-Ase}^{+} - R + \text{Histamin} \longrightarrow \text{Histamin} - R + \text{Enzym} + H^{+}$

Wenn durch Nicotinamid die Diphosphopyridinnucleotidase (NAD-ase) gehemmt wird, findet man im Magen der meisten Arten eine starke Histaminbildung (s. unten).

Histamin wird also durch Magengewebe aller Species rasch umgesetzt, wenn auch auf verschiedene Weise. Nach der Darstellung des Histaminstoffwechsels erhebt sich nun die Frage, wie das Histamin in den Mechanismus der acetylcholin- bzw. gastrininduzierten Magensaftsekretion eingreift.

2.) Die Hypothese von Histamin als finalem Chemostimulator der Magensaftsekretion.

2a.) Die gastrininduzierte Magensaftsekretion.

Bei Mensch, Katze und Ratte erfolgt die Histaminliberierung durch Gastrin (29). Auch traten große Histaminmengen im Urin bei Patienten auf, die an einem gastrinsezernierenden Inselzelladenom litten (Zollinger-Ellisonsyndrom) (24). Nach Entfernung des Tumors fiel die Histaminausscheidung im Harn wieder zur Norm ab.

Bei der Ratte sinkt der Histamingehalt der Magenschleimhaut durch Gabe von Gastrin signifikant um etwa 30% (85), in der ersten halben Stunde nach der Injektion sogar bis zu 45% (42). Diese Tatsache ist von großer Wichtigkeit für die Frage, ob Gastrin oder Histamin der finale Chemostimulator der sauren Magensaftsekretion ist.

Zu Gunsten des Histamins sprechen folgende Befunde:

1. Gastrin ist eindeutig als Histaminliberator nach gewiesen worden. (s. oben). Histaminmengen in einer Größe, wie sie durch Gastrin tatsächlich freigesetzt werden, stimulieren die Magensaftsekretion auch bei Fehlen von Gastrin, z.B. in der Fundusschleimhaut in vitro oder in Transplantaten. Dieser Befund spricht nicht dafür, daß die Histaminfreisetzung durch Gastrin physiologisch bedeutungslos ist.

2.) Eine Hypercalcämie hemmt die gastrininduzierte Magensaftsekretion, nicht aber die histamininduzierte.

Versuche darüber wurden am Hund durchgeführt, bei dem

eine Hypercalcämie die Magensaftsekretion durch Gastrin-, Tetrapeptid- und Physostigminreiz sowie nach Nahrungsaufnahme hemmt, während die histamin-induzierte Magensaftsekretion erhalten bleibt (47). Offensichtlich bleibt Histamin als letztes Glied der Reaktionskette wirksam, wogegen bei Anwesenheit von Calcium das intrinsic Histamin nicht mehr durch Gastrin freigesetzt werden kann.

3. Gastrin fördert die Histaminbildung. An Ratten, Mäusen, Küken und Fröschen konnte eine starke Erhöhung der Aktivität der Histidindecarboxylase nach Histaminliberierung durch Gastrin gezeigt werden (42). Die Zunahme der Histidindecarboxylase-Aktivität dürfte auf einer Enzyminduktion beruhen, da sie durch Puromycin und Cycloheximid hemmbar ist (84). Ein Rückkoppelungsmechanismus sorgt durch die aktivierte Histidindecarboxylase dafür, daß die bei der Sekretion entleerten Histaminspeicher wieder aufgefüllt werden (42).

4. Eine Blockierung der Histidindecarboxylase hemmt die gastrin-induzierte Magensaftsekretion. Die Hemmung der Histidindecarboxylase durch Hydrazinanaloge des Histidins ließ die durch Gastrin stimulierte Magensaftsekretion stark abnehmen (46), da das freigesetzte Histamin nicht mehr genügend nachgebildet wird.

5. Eine Histaminase-Infusion hemmt die Magensaftsekretion nach Nahrungsaufnahme. Vagale Mechanismen und Nahrungsaufnahme, die im Antrum Gastrin freisetzen (78), werden durch Histaminase-Infusion vollständig gehemmt (30).

6. Hemmstoffe des Histaminabbaus verstärken die gastrin-induzierte Magensaftsekretion. Hemmstoffe der Diaminoxydase, wie Aminoguanidin und Iproniacid, steigern die Wirkung von Gastrin und Histamin auf die Magensaftsekretion bei Ratten, deren Magen keine Histaminmethyltransferase enthält (s. oben). In den Nieren dieser Tiere kommt jedoch die Histaminmethyltransferase vor, sodaß parenteral verabreichtes Histamin dort umgesetzt wird. Eine Hemmung der Histaminmethyltransferase durch Chlorpromazin und Bromlysergsäurediäthylamid verstärkt also die Wirkung des injizierten Histamins auf die Magensaftsekretion (4).

7. Vergleich der Wirksamkeit von Histamin und Gastrin. Parenteral appliziertes Histamin hat auf molarer Basis eine 200 - 2000 fach geringere Wirkung als Gastrin, weil es im Blut sofort inaktiviert wird, Gastrin dagegen nicht. Diese Inaktivierung erscheint bei den vielen "Nebenwirkungen" des Histamins sinnvoll. Da Histamin bei der Magensaftsekretion intrinsic, Gastrin aber extrinsic wirkt und parenteral nicht abgebaut wird, ist die Folgerung, Histamin könne nicht der finale Chemostimulator sein, nicht zutreffend.

Um diese Befunde zusammenzufassen:

Gastrin setzt Histamin frei, während Histamin auch ohne Gastrin wirksam ist. Die Hemmung der Histaminbildung bzw. gesteigerter Histaminumsatz vermindern die Wirkung von Gastrin auf die Magensaftsekretion stark.

Es erscheint deshalb gerechtfertigt, das Gastrin in der Reihenfolge der Chemostimulatoren vor das Histamin zu setzen.

2b.) Die vagal induzierte Magensaftsekretion.

Neben Gastrin stimulieren parasympathicomimetische Mechanismen die Magensaftsekretion. Vagusreizung sowie Parasympathicomimetica setzen Histamin aus Nichtmastzellspeichern der Magenschleimhaut frei. Versuche mit ^{3}H-markiertem Histamin ergaben, daß parenteral appliziertes Histamin in solche Speicher aufgenommen wird, die durch parasympathischen Reiz, nicht aber durch 48/80 entleert werden können. Dabei wurden markiertes Histamin und seine Metabolite im Magensaft und Speichel aufgefunden, zusammen mit nichtmarkiertem Histamin. Das Verhältnis von nichtmarkiertem zu markiertem Histamin nahm im Verlauf der Sekretion zu, die Gesamtsumme änderte sich jedoch nicht. Somit vermischt sich parenteral verabreichtes Histamin in den Speichern mit Nichtmastzellhistamin und wird mit ihm zusammen freigesetzt. Die rechnerische Auswertung dieser "endogenen Isotopenverdünnung" ergab, daß Histamin während der Sekretion sehr rasch gebildet und wieder frei-, bzw. umgesetzt wird.

Ebenso wie Gastrin fördert Acetylcholin, der physiologische Überträgerstoff an den Synapsen des Vagus, die Magensaftsekretion durch Freisetzung von Histamin. Folgende Befunde können dies belegen:

1.) Atropin, der Hemmstoff der parasympathischen Magensaftsekretion, blockiert nach Johnson et al. (40) die Liberierung von markiertem Histamin aus Nichtmastzellspeichern (s. auch 39). Ferner hemmt es nach Beaven et al. (10) die Histaminbildung in vivo.

2.) Atropin hemmt die vagale Magensaftsekretion vollständig, nicht jedoch die histamin-induzierte, außer es werden toxische Dosen gegeben (7, 39).

3.) Die vagale Sekretion wird blockiert durch Histaminase-Infusion und vollständige Hemmung der Histaminbildung durch Hydrazinanaloge des Histidins und durch 4-Brom-3-hydroxybenzyloxamin (NSD 1055) (46), einem starken Hemmstoff der Histidindecarboxylase.

4.) Das Fluorescin-Derivat Phloxin blockiert die histamin- und vagal -induzierte Magensaftsekretion, indem es mit Histamin einen antihistaminisch wirkenden Komplex bildet (63).

Entscheidend ist die Frage, ob die durch einen physiologischen Reiz (z.B. eine Mahlzeit) freigesetzte Menge Histamin auch der entspricht, die eine zur Verdauung notwendige Magensaftsekretion bewirken kann. Schayer und Ivy (74,75) legten im Magen fastender Ratten durch i.p. Injektion von ^{14}C-markiertem Histamin ein ^{14}C-Histamindepot an. Die Tiere bekamen nach 36-stündigem Fasten Aminoguanidin zur Hemmung der Diaminoxydase. Während der Behandlung mit Aminoguanidin wurden sie einmal gefüttert. Nach dem Testmahl stieg die tägliche

^{14}C-Histaminausscheidung im Urin um 43% und fiel bereits tags darauf, als die Tiere wieder fasteten, auf die ursprüngliche Höhe ab. Nach der Fütterung fand man im Magen-Darm-Trakt eine Abnahme des ^{14}C-Histamingehalts um durchschnittlich 30%. Diese Abnahme stimmt mit der Zunahme von ^{14}C-Histamin im Urin überein, da während der Verdauung in anderen Organen praktisch kein Histamin gebildet wird. Dadurch, daß eine angemessene Säurebildung bei den mit Aminoguanidin behandelten Ratten durch die Gabe des aus dem Urin isolierten Histamin erreicht werden konnte, gelang es zu zeigen, daß die physiologisch freigesetzte Histaminmenge eine verdauungswirksame Magensaftsekretion zustande bringt.
Auf Grund dieser Ergebnisse läßt sich, wie beim Gastrin, (s. oben) auch hier das Histamin an das Ende der Stimulatorenkette setzen.

3.) Über die Zusammenhänge zwischen Magensaftsekretion und Freisetzung von Histamin in den Magensaft wird zur Zeit noch gearbeitet (Habilitationsarbeit Dr. Lorenz) (60).

B. EXPERIMENTELLER TEIL

I. ZIEL DER ARBEIT

Es sollte die Histaminbildung durch spezifische Histidindecarboxylasen in der Magenschleimhaut des Menschen und einiger Säugetiere untersucht werden. Ferner sollten die Eigenschaften dieser Decarboxylasen an Hand ihrer pH- und Substratoptima näher beschrieben werden.

Daneben befaßt sich die Arbeit mit der Histaminfreisetzung durch das Kurzzeitnarkotikum Propanidid (Epontol ^{R}).

II. METHODIK

1.) Untersuchung der Histidindecarboxylasen.

a) Gewebs- und Enzymmaterial, Substanzen:

Magengewebe von Menschen, Schimpansen, Schweinen und Rindern, Hunden, Katzen, Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten wurde in lebensfrischem Zustand mit CO_2-Schnee tiefgefroren. Bei der Aufarbeitung wurde im Bereich der Lamina submucosa die Schleimhaut von der Lamina propria abgetrennt. Nur bei der Ratte wurde die ganze Wand des Drüsenmagens verwendet.

Zur Gewinnung von histidindecarboxylase-haltigen Rohextrakten wurde die Magenschleimhaut mit 2 Teilen 0,2 M Phosphatpuffer (KH_2PO_4 / Na_2HPO_4, pH 7,0), für Ansätze zur Bestimmung des pH-Optimums mit 0,05 M Phosphatpuffer, mit dem Ultraturrax homogenisiert. Anschließend wurde das Homogenat 5 min. bei 1.800 xg und der Überstand noch einmal 30 min. bei 0°C und 100.000 xg zentrifugiert. Der 2. Überstand diente als enzymhaltiger Rohextrakt.

Zur Anreicherung des Enzyms wurden 8-10 ml Rohextrakt der Magenschleimhaut von Meerschweinchen auf eine Säule Sephadex G 100 (3,5 x 100 cm) aufgetragen. Eine Mischung aus 0,16 M NaCl-Lösung mit 0,02 M Phosphatpuffer diente als Flußmittel, da niedrigere Ionenstärken zum Ausfall des Enzyms auf der Säule, höhere Phosphatkonzentrationen zu größeren Ausbeuteverlusten führten. Das Filtrat wurde direkt zur Enzymbestimmung verwendet.

Folgende Substanzen wurden für die Ansätze benötigt: L-Histidin und Pyridoxal-5'-phosphat (Fluka), Aminoguanidinsulfat (Schuchardt), Chlorpromazin (2-Chlor-10 (3-dimethylaminopropyl)-phenothiazinhydrochlorid)(Farbenfabriken Bayer), Nicotinamid, Benzol und Phosphate (Merck, Sharp & Dohme, Westpoint, USA), Sephadex G 100 (Deutsche Pharmacia). Für die Histaminbestimmung: o-Phthaldialdehyd (umkristallisiert aus Petroläther, S.P. 50-70°C)(Fluka), n-Butanol (für Chromatographie, Riedel de Haën), n-Heptan (Uvasol,Merck), anorganische Substanzen ebenfalls als Uvasole, soweit möglich. Die Glaswaren wurden mit RBS 25 (Roth) gereinigt und mehrfach mit Leitungswasser, destilliertem Wasser und zuletzt mit deionisiertem Wasser gespült. Die besonders sorgfältige Auswahl von Reagentien und Reinigung der Glaswaren erwies sich als notwendig, um gute Ausbeuten bei der Isolierung des Histamins zu erzielen.

b.) Ansätze zur Bestimmung der Histidindecarboxylasen. Die Inkubation der Ansätze erfolgte in der Warburg- oder Gallenkampapparatur bei 37°C unter N_2-Atmosphäre. Im Hauptgefäß befanden sich 0,8 ml Rohextrakt, 1,3 ml bis 1,5 ml Phosphatpuffer (0,2 M KH_2PO_4 / Na_2HPO_4, pH dem pH-Optimum (Tab.3) des betreffenden Enzyms entsprechend) und jeweils 0,1 ml der Lösung von Hemmstoffen für Histamin umsetzende Enzyme (Zusammensetzung und Endkonzentration s. Tabelle 1). Das Seitengefäß enthielt

0,5 ml L-Histidinlösung (1×10^{-4} - 1×10^{-2} M Endkonzentration, entsprechend der optimalen Substratkonzentration) (s. Tab.4). Das Endvolumen des Ansatzes betrug 3,0 ml, wobei alle Zusätze in 0,2 M Phosphatpuffer gelöst waren, um möglichst die optimale Ionenstärke von 0,2 M zu erzielen (95). Bei der Bestimmung der sogenannten unspezifischen Histidindecarboxylase wurde den Ansätzen noch 0,05 ml Benzol ($2,5 \times 10^{-4}$ M Endkonzentration) hinzugefügt, das aus bisher nicht geklärter Ursache diesen Enzymtyp aktiviert (88). In Ansätzen mit Sephadexfiltrat wurden 1,5 ml Filtrat und entsprechend weniger Puffer eingesetzt. Auch mußte dem Inkubat Pyridoxal-5'phosphat ($6,25 \times 10^{-5}$M Endkonzentration) zugesetzt werden. Im übrigen wurde wie bei den Ansätzen mit Rohextrakten verfahren.

Die Reaktion wurde durch Zukippen des Substrates gestartet. Nach 5, 10, 15, gelegentlich auch nach 2,5 und 30 min. wurde sie durch Zusetzen von je 0,5 ml 3 N Perchlorsäure gestoppt. Als Maß der Enzymaktivität diente der Histaminzuwachs im Ansatz, der spektrofluorometrisch nach Shore et al. (79) in der Modifikation von Burkhalter (17) bestimmt wurde. Dabei kondensiert sich das Histamin in ein Butanol-Chloroform-Gemisch und anschließend in 0,1 N HCl mit o-Phthaldialdehyd zu einem Fluorophor, das bei 360 nm angeregt wird und bei 450 nm optimal fluoresziert. Die Ausbeute von Histamin, das vor der Fällung mit Perchlorsäure zugesetzt wurde, betrug im Durchschnitt etwa

70%. Die Spezifität der fluorometrischen Bestimmung wurde gelegentlich im biologischen Test am isolierten Meerschweinchenileum überprüft. Durch 1-5 mcg Antazolin pro lo ml Badflüssigkeit ließ sich die durch Histamin verursachte Kontraktion des Darmes in allen Fällen vollständig aufheben. Das Fluoreszenzspektrum des Gewebeextraktes in 0,1 N HCl stimmte mit dem von Standardhistamin überein. Um eine eventuelle Störung der Fluoreszenz durch die zur Extraktion und Messung des Histamins verwendeten Substanzen festzustellen, wurde bei jeder Serie ein Blindansatz mitgeführt, der alle Substanzen enthielt, bei dem aber die Kondensation von Histamin mit o-Phthaldialdehyd durch Zugabe der 3 M HCl vor der 0,4 M NaOH verhindert wurde (17,79)

c.) Histidin- und Proteinbestimmung.

Histidin wurde spektrofluorometrisch nach Pisano et al. (64) gemessen, der Eiweißgehalt mit der Biuretmethode nach Weichselbaum (89).

d.) Kontrollwerte und Definitionen.

Die Enzymaktivität wird in p Mol Histaminzuwachs / min und mg Protein angegeben. Der Histaminzuwachs wird aus der Differenz von Haupt- und Nullwert bestimmt, und zwar als Mittelwert der Ansätze nach 5, 10 und 15 min (linearer Bereich der Zeitumsatzkurven). Als Nullwert wird der Histamingehalt in Ansätzen mit säureinaktiviertem Enzym und Substratzusatz, als Hauptwert der Histamingehalt in Ansätzen mit Substratzusatz und intaktem En-

zym bezeichnet. Der Nullwert wurde durch einen Hauptwert überprüft, in dem ein Zusatz von Aminoguanidin (5×10^{-3} M Endkonzentration) die Histidindecarboxylase hemmte (sog. Hemmwert). Dieses erwies sich als nötig, da gelegentlich sämtliche Hauptwerte unter dem Nullwert, aber beträchtlich über dem Hemmwert lagen. Als Ursache hierfür kommen die weiteren Umsatzwege des Histamins in Frage, z.B. die Transaminierung (38), die durch die eingesetzten Hemmstoffe noch nicht blockiert werden konnten. Nur wenn Null- und Hemmwert übereinstimmten, konnte angenommen werden, daß der Histaminumsatz annähernd vollständig blockiert und die wirkliche Histidindecarboxylierung gemessen wurde.

2.) Messung der Histaminfreisetzung durch Propanidid.
Da verschiedene Narkotika und Psychopharmaka eine für den Anaesthesisten oft unerwünschte Hypotension bewirken, besteht die Möglichkeit, daß diese neben anderen Faktoren auch durch Histaminfreisetzung verursacht wird. Als einer der empfindlichsten Tests der Histaminfreisetzung im Organismus wird die Stimulierung der Magensaftsekretion angesehen (27). Als Indikator für diese wurden die pH-Werte und Säuremengen des Magensaftes, sowie die Bestimmung der Histamingehalte im Vollblut ausgewertet. Das erste auf seine histaminliberierende Wirkung untersuchte Narkotikum war Epontol^{R}, d.h. der in Cremophor - El gelöste Wirkstoff Propanidid (36,96).

a) Probanden

Als Versuchspersonen dienten 13 anamnestisch gesunde, männliche Studenten im Alter von 22-25 Jahren und 60-80 kg Körpergewicht. Sie stellten sich in willkürlicher Reihenfolge jeweils dreimal im zeitlichen Abstand von mindestens einer Woche einer Untersuchung zur Verfügung. Der Versuch lief folgendermaßen ab:

1. eine Epontol^{R}-Narkose (7mg/kg KG) nach vorheriger Atropingabe innerhalb von 20 sec,
2. mindestens 8 Tage später eine weitere Epontol^{R}-Narkose unter gleichen Bedingungen ohne Atropin,
3. Epontol^{R} in sog. Schußinjektion (ohne Atropin) und
4. Injektion des Lösungsvermittlers Cremophor - El (10 ml, entsprechend dem Volumen an Lösungsmittel im Epontol^{R}), (ohne Atropin).

b) Parameter der Histaminfreisetzung

Zur Bestimmung der Basalsekretion wurde 30 min vor Injektionsbeginn eine Nasogastralsonde angelegt. Parallel hierzu wurden zur Histaminbestimmung 5 ml Blut im Abstand von 15 min aus der Vena mediana cubiti oder einer Vene im Bereich des Unterarms entnommen. Das Narkotikum wurde am anderen Arm i.v. injiziert, der Blutdruck mit einem Siemens-Schreiber automatisch registriert. Die Kontrollwerte vor der Narkose sind in Abb. 7 und 8 als

Nullwerte angegeben.

Nach 3, 6, 10, 20 und 30 min wurden je 5 ml Blut entnommen und sofort mit 5 ml 1 N Perchlorsäure enteiweißt. Nach Zentrifugation wurden 4 ml des Überstandes der Histaminbestimmung nach Shore et al. (79) in der Modifikation nach Burkhalter (17) bzw. Thunberg (87) in der Modifikation von Lorenz et al. (59) zugeführt.

In einigen Fällen wurden die dem Histamin zugeschriebenen fluorometrisch gemessenen Werte am isolierten Meerschweinchenileum überprüft, die Spezifität der Bestimmung wurde mit 1-5 mg Antistin^{R} pro 12 ml Badflüssigkeit sichergestellt. Das Fluoreszenzspektrum entsprach dem von Standardhistamin.
Mit der Blutentnahme zeitlich übereinstimmend wurde der Magensaft abgesaugt, sein Volumen sowie potentiometrisch sein pH-Wert und durch Titration mit 0,1 N NaOH die Säuremenge bestimmt (m val HCl/min).

III. ERGEBNISSE

1. Untersuchung der Histidindecarboxylasen.

1.1. Bestimmung der spezifischen Histidindecarboxylase

a) Zusammensetzung und Konzentrationen von Hemmstoffen des Histaminumsatzes.

Der Histaminumsatz in verschiedenen Geweben des tierischen Organismus erfolgt durch unterschiedliche Enzymmuster (54): je nach Organ sind daran vor allem Diaminoxydase (Diamin : O_2-Oxydoreduktase E.C. 1.4.3.6.), Histamin-Methyltransferase (E.C. 2.1.1.8.) und Diphosphopyridinnucleotidase (NAD (P) - Glycohydrolase E.C. 3.2.2.6.) beteiligt. Letztere katalysiert eine Reaktionskette, bei der Nicotinamid im NAD durch Histamin ersetzt wird und Histamin-Adenindinucleotid entsteht (2). Um den Histaminzuwachs im Ansatz bestimmen zu können, mußten diese Enzyme ausgeschaltet werden: Die Diaminoxydase durch Aminoguanidin (77), die Histamin-Methyltransferase durch Chlorpromazin (15) und die Diphosphopyridinnucleotidase durch Nicotinamid (97).

Den Ansätzen wurden die genannten Hemmstoffe in Konzentrationen zugesetzt, die zuvor als optimal ermittelt worden waren (Tab. 1). Aminoguanidin und Chlorpromazin in höheren Konzentrationen hemmten auch die Histidindecarboxylasen (53), im Gegensatz zum Nicotinamid, das selbst in 5×10^{-2} M Endkonzentration ohne Einfluß auf die Histidindecarboxylase war.

b) Reaktionsverlauf.
Im Rohextrakt wird L-Histidin nur wenige Minuten mit konstanter Geschwindigkeit decarboxyliert (Abb. 2). Diese Zeitspanne schwankt stark von Art zu Art, weniger innerhalb einer Spezies. Der Reaktionsverlauf sollte deshalb bei jeder Aktivitätsbestimmung ermittelt werden. Die Hauptursache für die Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit ist in der Bildung eines Hemmkomplexes zwischen Pyridoxal-5'-Phosphat und Substrat zu suchen (53,94,95). Trotz Zusatz von Hemmstoffen des Histaminumsatzes, kommt es bei einigen Spezies bereits nach 15-30 min zu einer Abnahme der Histaminmenge im Ansatz (Abb. 2). Bei der Schweineschilddrüse konnten Lorenz et al. (55) einen Verbrauch von Hemmstoff hierfür verantwortlich machen (53). Die Abnahme des Histamingehalts im Ansatz nach 30-60 min, vor allem aber nach 3 Stunden Inkubationszeit - wie bisher gehandhabt - ist einer der Gründe für den vergeblichen Versuch anderer Autoren, die Histidindecarboxylase überhaupt oder in ihrer annähernd wahren Aktivität im Säugermagen nachzuweisen.

1.2. Aktivität und Verteilung der spezifischen Histidindecarboxylase

a) Histidindecarboxylase in der gesunden Magenschleimhaut verschiedener Säugerarten. In der Magenschleimhaut des Menschen und aller untersuchten Säugetiere (Tab. 2) konnten spezifische Histidindecarboxylasen

Art	Aminoguanidin (M)	Chlorpromazin (M)	Nicotinamid (M)
Mensch	$1{,}3 \times 10^{-4}$	-	1×10^{-2}
Affe	-	5×10^{-4}	1×10^{-2}
Hund	-	5×10^{-4}	1×10^{-2}
Schwein	$1{,}3 \times 10^{-4}$	-	1×10^{-2}
Rind	$1{,}3 \times 10^{-4}$	-	1×10^{-2}
Kaninchen	$5{,}0 \times 10^{-4}$	-	1×10^{-2}
Meerschweinchen	$1{,}3 \times 10^{-4}$	5×10^{-4}	1×10^{-2}
Ratte	$1{,}3 \times 10^{-4}$	-	1×10^{-2}

Tab. 1

Zusammensetzung und Konzentration von Hemmstoffen des Histaminumsatzes bei der Bestimmung von spezifischen Histidindecarboxylasen der Magenschleimhaut.

Die Konzentration der Hemmstoffe ist in molarer End= konzentration im Ansatz angegeben.

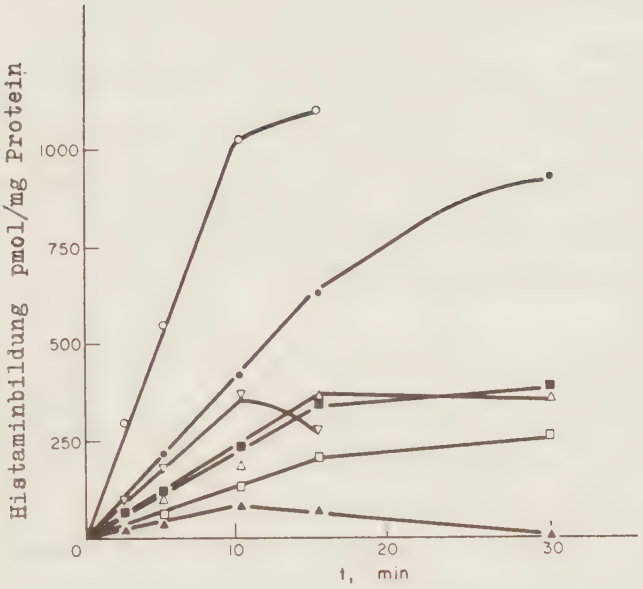

Abb. 2

Kinetik der Histidindecarboxylierung in Rohextrakten der Magenschleimhaut verschiedener Species. Inkubationsbedingungen s. Methodik und Tab. 1.

○——○ Schwein
■——■ Mensch
△——△ Meerschweinchen
▲——▲ Affe
▽——▽ Rind
●——● Ratte
□——□ Kaninchen

mit relativ hoher Aktivität nachgewiesen werden. Die stärkste Histaminbildung wurde im Fundus- und Corpusbereich gemessen, wo bekanntlich auch die größte Dichte der Salzsäure bildenden Belegzellen nachgewiesen wurde. Damit scheint die eine der drei oben genannten Bedingungen für Histamin als physiologischem Chemostimulator erfüllt. Auch im Antrum konnte die Histidindecarboxylase nachgewiesen werden.

Die höchste Histidindecarboxylaseaktivität fand sich im Fundus- und Corpusbereich des Schweines. Sie gehört neben der in der Hamsterplacenta (97) zu den höchsten in allen bisher bekannten normalen Säugergeweben. Es ließ sich wie bei der Ratte (19) und beim Kaninchen (94) in der Magenschleimhaut des Rindes von oral nach aboral eine Korrelation zwischen Histamingehalt und Histidindecarboxylase-Aktivität feststellen, dagegen nicht beim Schwein und Affen (Abb. 3).

b) Histidindecarboxylase im Magencarcinomgewebe des Menschen. Auch im Gewebe menschlicher Magencarcinome konnten Histamin und die spezifische Histidindecarboxylase nachgewiesen werden (Tab. 3). Die Enzymaktivitäten lagen unter denen im normalen Magengewebe (s. Tab. 2), doch ließ sich die spezifische Histidindecarboxylase ohne Ausnahme einwandfrei nachweisen. Zwischen der Höhe des Histamingehalts, der in den entzündlich

Art	Histidindecarboxylierung in pmol Histaminzuwachs/min und mg Protein					
	n	Fundus	n	Corpus	n	Antrum
Mensch	7	10,6 ± 2,6	12	7,1 ± 1,4	3	4,9 ± 1,2
Affe	3	18,7 ± 7,7	5	4,6 ± 1,8	3	7,2 ± 1,7
Hund	2	38,4	2	46,5	2	26
Katze	1	7,4	-	-	-	-
Schwein	4	202 ± 105	4	60 ± 14	4	77 ± 18
Rind	-	-	2	44,7	2	24,0
Kaninchen	2	15,2	2	5,1	2	2,9
Meerschweinchen	3	16,4 ± 9,1	3	13,8 ± 1,5	3	13,1 ± 0,8
Ratte	-	-	10	29,3 6,8	-	-

Tab. 2

Aktivität der spezifischen Histidindecarboxylasen in Rohextrakten der Magenschleimhaut.

Mittelwerte ± Standardabweichung. n = Anzahl der Versuche. Beim Rind wurde der Labmagen untersucht, bei der Ratte der Drüsenmagen nach Entfernung des Rumens. Die Schleimhaut wurde im Bereich der Submucosa von der Lamina propria abgezogen. Bei Ratten und Meerschweinchen wurden jeweils die Organe von je 10 Tieren gemischt. Inkubationsbedingungen s. Methodik und Tab. 1, Substratkonzentrationen s. Tab. 4, pH-Wert der Ansätze s. Abb. 4a,b.

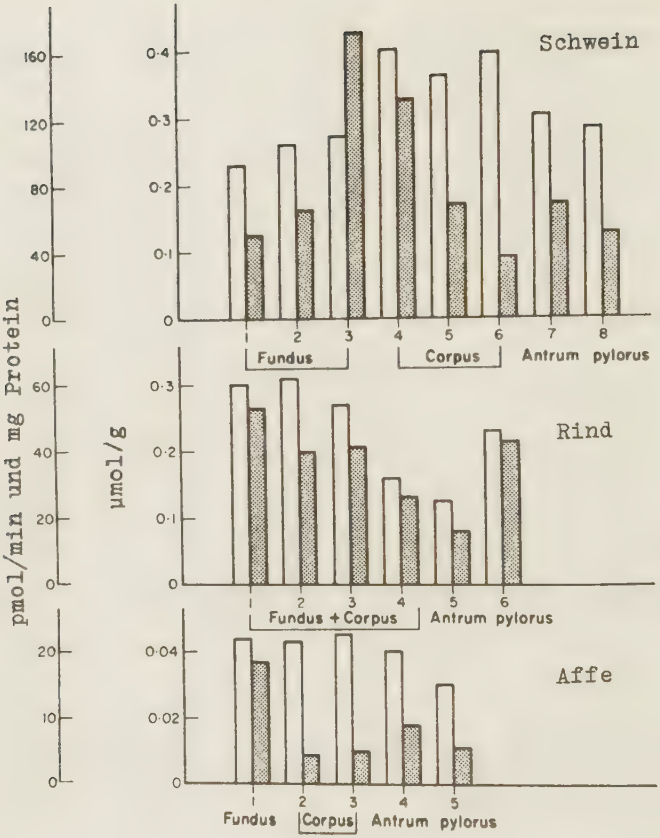

Abb. 3

Lokale Verteilung von Histamin und der spezifischen Histidin= decarboxylase in der Magenschleimhaut von Schwein, Rind und Affe. Hauptwerte aus zwei Bestimmungen. ☐ Histamin in µmol/g Frischgewicht, ⊞ Aktivität der spezifischen Histidin= decarboxylase in pmol/min und mg Protein. Die Magenschleimhaut wurde entlang der Ringmuskulatur in gleiche Streifen von 3-5 cm Breite zerschnitten. Korrelationskoeffizienten zwischen Histamingehalt und der Aktivität des Enzyms: Schwein r=0,08 ; Rind r = 0,86, $P < 0,05$; Affe r = 0,1.

Diagnose *	Histamin= gehalt **	Histidindecarboxy= laseaktivität **
1 Adenocarcinom, scirrhös, im Fundusbereich	11,4	5,8
2 Adenocarcinom im Corpus= bereich	13,2	0,4
3 Adenocarcinom, polypös, Anastomosenbereich nach Billroth II, Wand	11,1	2,2
4 Adenocarcinom, 1.c.3, Polyp	5,8	3,0
5 Adenocarcinom, 1.c.3, Meta= stase im mesenterialen Lymphknoten	5,8	6,0
6 Adenocarcinom im Cardia= bereich	8,2	9,6
7 Adenocarcinom, 1.c.6, be= nachbarte Fundusschleim= haut	9,4	5,5

Tab. 3

Histamin und spezifische Histidindecarboxylase im Carcinom= gewebe menschlicher Mägen.

*Die Diagnose wurde von Prof. Dr. A. Schauer, Pathologisches Institut der Universität München, gestellt.

**Histamingehalt in mcg Histamindihydrochlorid/g Frischgewicht, Histidindecarboxylaseaktivität in pmol Histaminzuwachs/min und mg Protein.

veränderten Randgebieten des Tumors den des eigentlichen Carcinomgewebes übertraf, und der Histidindecarboxylase-Aktivität bestand keine Proportionalität.

1.3. Eigenschaften der spezifischen Histidindecarboxylasen der Magenschleimhaut.

a) Enzymaktivität bei verschiedenen pH-Werten.

Es wurden folgende pH-Optima ermittelt (Abb. 4 a,b): beim Schwein pH 6,9 - 7,3, beim Rind pH 6,4 und 7,2, beim Menschen pH 6,8 - 7,0 und im Gegensatz hierzu beim Meerschweinchen pH 6,4, beim Kaninchen pH 6,3 und bei der Ratte sogar pH 5,7. Die spezifischen Histidindecarboxylasen der Nagetiere unterschieden sich somit von denen der anderen Arten.

Der zweite Gipfel der pH-Aktivitätskurve bei der Ratte (pH 7,9 - 8,1) wird durch die unspezifische Histidindecarboxylase verursacht (s. unten). Überraschenderweise wies sie eine wesentlich höhere Aktivität auf, als die spezifische Histidindecarboxylase. Die beiden Gipfel der Aktivität im Rindermagen entsprechen spezifischen Histidindecarboxylasen.

b) Enzymaktivität bei verschiedenen Substratkonzentrationen. In Rohextrakten der Magenschleimhaut nimmt die Histaminbildung mit steigenden Substratkonzentrationen zu. (Abb. 5a,b). Doch ist das Optimum von Spezies zu Spezies bis um eine Zehnerpotenz verschieden (Tab. 4): die höchste Histidinkonzentration benötigen die Enzyme

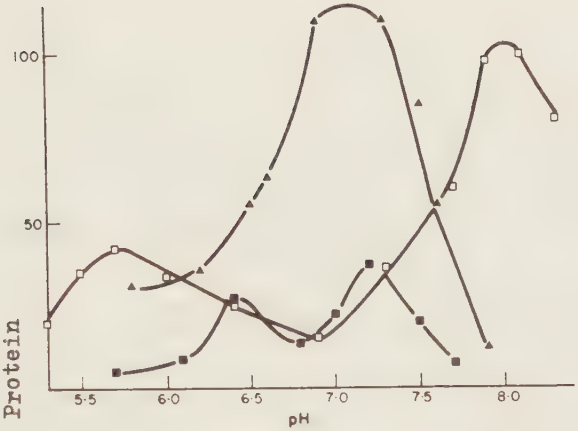

Abb. 4a

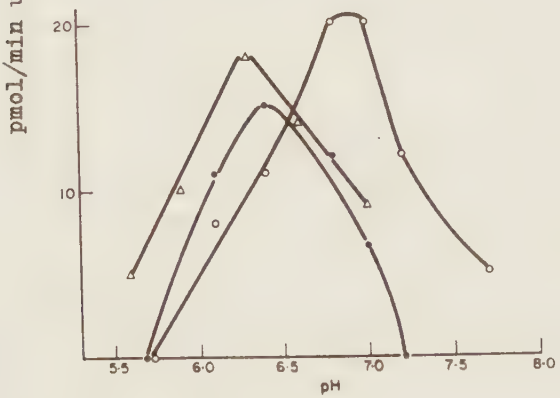

Abb. 4b

pH-Aktivitäts Kurven der spezifischen Histidindecarboxylasen der Magenschleimhaut verschiedener Spezies. Hauptwerte aus 3-4 Bestimmungen. Inkubationsbedingungen s. Methodik und Tab. 1. Die unspezifische Histidindecarboxylase des Rattenmagens wurde mit Benzol inkubiert von pH 7,3 bis pH 8,3.

4a : ▲——▲ Schwein; □——□ Ratte; ■——■ Rind;

4b : ○——○ Mensch; ●——● Meerschweinchen;

△——△ Kaninchen;

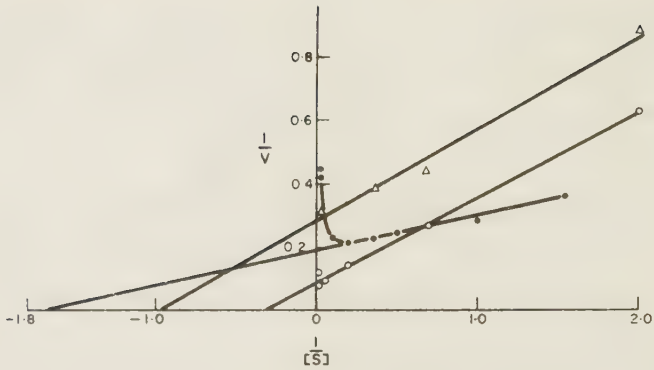

Abb. 5a

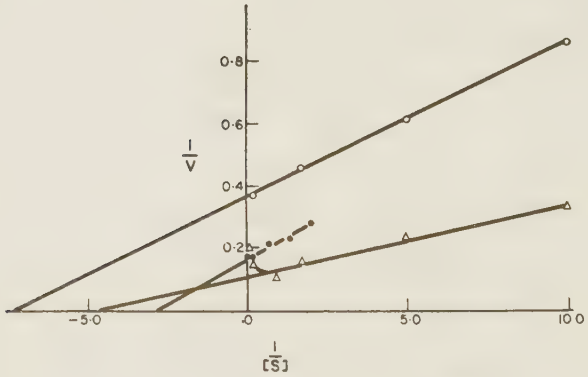

Abb. 5b

Michaeliskonstanten der spezifischen Histidindecarboxylasen der Magenschleimhaut verschiedener Spezies, nach Lineweaver und Burk (50). Hauptwerte aus 2-3 Bestimmungen. v = nmol/min, (S) = a x 10^{-4}(M), Enzymlösung 25-45 mg Protein pro Ansatz. Sonstige Bedingungen s. Methodik und Tab. 1.

5a : ●——● Mensch; △——△ Kaninchen; ○——○ Ratte;

5b : ●——● Meerschweinchen; ○——○ Rind; △——△ Schwein;

Art	Substratoptimum (M)	K_m (M)
Mensch	5×10^{-4}	$5,7 \times 10^{-5}$
Schwein	1×10^{-4}	$2,0 \times 10^{-5}$
Rind	1×10^{-4}	$1,3 \times 10^{-5}$
Meerschweinchen	5×10^{-4}	$3,3 \times 10^{-5}$
Kaninchen	1×10^{-3}	$1,0 \times 10^{-4}$
Ratte	1×10^{-3}	$2,5 \times 10^{-4}$

Tab. 4

Substratoptima und Michaeliskonstanten der spezifischen Histidindecarboxylasen der Magenschleimhaut verschiedener Säugerarten.

Ableitung von K_m nach Lineweaver und Burk (50) (Abb. 5 a, b), Mittelwerte aus 3 Bestimmungen. Messung der endogenen Histidinkonzentration spektrofluorometrisch nach Pisano et al.(1957). Die pH-Werte im Ansatz entsprechen den pH-Optima in Abb. 4 a,b.

aus Ratten- und Kaninchenmagen, die niedrigsten die aus Schweine- und Rindermagen.

Die Michaeliskonstanten, nach Lineweaver - Burk (50) abgeleitet (Abb 5a,b), liegen zwischen 10^{-5} und 10^{-4} M. Verglichen mit den K_m von spezifischen Histidindecarboxylasen anderer Organe (54,76) sind sie verhältnismäßig niedrig. Die Bestimmungen für den Rattenmagen stimmen mit den Werten anderer Autoren überein (33,81). Da die endogene Histidinkonzentration im Ultrazentrifugat, spektrofluorometrisch mit der Methode von Pisano et al. (64) gemessen, 2,- 5 x 10^{-5} M beträgt, erscheint eine Histaminbildung in vivo durch die gefundenen spezifischen Histidindecarboxylasen durchaus möglich. Die K_m der unspezifischen Histidindecarboxylase des Rattenmagens betrug 1,0 x 10^{-3}, in Übereinstimmung mit Radwan und West (67), ist also um eine Zehnerpotenz niedriger als der von Weissbach et al. (90) ermittelte Wert.

Durch überoptimale Substratkonzentrationen werden die spezifischen Histidindecarboxylasen der Magenschleimhaut zunächst gehemmt (Abb. 6): beim Rind zu 80%, beim Menschen zu 60%, beim Schwein zu 50%, beim Meerschweinchen und bei der Ratte zu nur 30% (vgl. Abb. 5a,b).

Bei weiterer Erhöhung der Histidinkonzentration nimmt aber die Hemmung der Enzyme bei Rind, Schwein und Meerschweinchen aus unbekannten Gründen wieder ab (Abb. 6).

c) Verhalten gegenüber α-Methyldopa, α-Methylhistidin und Benzol.

Die spezifische Histidindecarboxylase wird durch α-Methylhistidin ($1{,}5 \times 10^{-2}$ M Endkonzentration), nicht aber durch α-Methyldopa (1×10^{-3} M Endkonzentration) gehemmt; die unspezifische Histidindecarboxylase verhält sich umgekehrt. Benzol wiederum aktiviert das unspezifische Enzym, während das spezifische je nach Organ unbeeinflußt bleibt oder sogar gehemmt wird. Die drei genannten Stoffe können deshalb zur Differenzierung der beiden Enzymtypen dienen (54). Keine der spezifischen Histidindecarboxylasen des Magens wird durch Benzol aktiviert, die des Meerschweinchen- und Rattenmagens werden sogar zu 60 - 100 bzw. zu 40% gehemmt. Keines dieser Enzyme wird durch α-Methyldopa gehemmt, wohl aber durch α-Methylhistidin (im Kaninchen-, Meerschweinchen- und Rattenmagen zu 100%). Die unspezifische Histidindecarboxylase des Rattenmagens (Ph 7,9 - 8,1) wird dagegen durch α-Methyldopa zu 100% gehemmt, durch Benzol um 105% aktiviert. Somit sind die nachgewiesenen Histidindecarboxylasen der Magenschleimhaut durch pH-Optimum, K_m und Verhalten gegenüber Hemmstoffen und Benzol nach bisher gültigen Kriterien eindeutig als sog. spezifische Histidindecarboxylasen charakterisiert.

d) Aktivierung durch Pyridoxal-5'-Phosphat.

Durch Pyridoxal-5'-Phosphat, bekannt als Coenzym beider

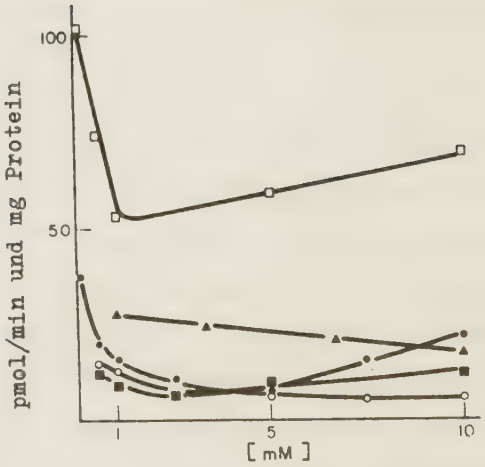

Abb. 6

Hemmung der spezifischen Histidindecarboxylase der Magen= schleimhaut durch supraoptimale Histidinkonzentrationen. Hauptwerte aus 2-3 Bestimmungen. Enzymaktivität in pmol/min und mg Protein, Substratkonzentration in mM Endkonzentration im Ansatz. Die Kurven beginnen links mit der optimalen Substratkonzentration.

○——○ Mensch
●——● Rind
□——□ Schwein
▲——▲ Ratte
■——■ Meerschweinchen

Histidindecarboxylasetypen, werden auch die Enzyme der Magenschleimhaut in unterschiedlichem Ausmaß aktiviert (Tab.5). Die optimalen Coenzymzusätze differieren von Spezies zu Spezies; überoptimale Konzentrationen führen durch Bildung eines Hemmkomplexes zwischen Coenzym und Substrat (94,95) rasch zu einer Hemmung des Enzyms (beim Menschen- und Schweinemagen in $6{,}25 \times 10^{-5}$ M Endkonz. schon zu 60 - 100% Hemmung). Auf einen regelmäßigen Zusatz von Pyridoxal-5'-Phosphat zum Ansatz wurde deshalb verzichtet; bei Sephadexgelfiltration erwies sich ein Zusatz von $6{,}23 \times 10^{-5}$ M Endkonz. als optimal (95).

1.4. Anreicherung der Histidindecarboxylase aus Magenschleimhaut und Niere des Meerschweinchens durch Ultrazentrifugation und Gelfiltration.

Wie bei den Histidindecarboxylasen der Schweineschilddrüsen wurde durch Gelfiltration an Sephadex G 100 bei der spezifischen Histidindecarboxylase der Meerschweinchenmagenschleimhaut eine 8-fache, bei der unspezifischen Histidindecarboxylase der Meerschweinchenniere bei einem Verlust an Gesamtaktivität von 20 bzw. 30% eine 6-fache Anreicherung erzielt. Im Proteingipfel des Filtrates (280 nm, Uvicord) erscheinen beide Histidindecarboxylasen jeweils zwischen mittlerem und letztem Drittel.

Ähnlich wie bei anderen Verfahren (z.B. Ammoniumsulfat-

fraktionierung, Hitzeschritt (31)) waren die erhaltenen Präparate bei 4°C nur einen Tag haltbar. Tiefgefrieren bei -15°C oder Lyophilisieren führte zum praktisch vollständigen Verlust der Aktivität. Bei der spezifischen Histidindecarboxylase des Meerschweinchenmagens konnte in beiden Sedimenten keine Aktivität nachgewiesen werden (Tab.6). Bei der Niere fanden wir aber nach der ersten Zentrifugation im Bodensatz mehr als 50%, nach der zweiten Zentrifugation noch immer 25% der spezifischen Aktivität des Überstandes. Die unspezifische Histidindecarboxylase der Niere scheint somit wesentlich weniger löslich und mehr strukturgebunden zu sein als die spezifische Histidindecarboxylase des Magens.

2. Histaminfreisetzung durch Propanidid.

Diese Versuche wurden in zwei Reihen durchgeführt; die Histaminfreisetzung wurde einmal durch Epontol^{R} (Propanidid gelöst in Cremophor El), zum anderen allein durch Cremophor El untersucht. Dies sollte zeigen, ob der Wirkstoff oder das Lösungsmittel des Epontol^{R} den Histaminspiegel beeinflussen (s. auch Methodik).

2.1. Wirkung des Epontol^{R} auf den Histaminspiegel im Blut und den pH-Wert des Magensaftes.

Nach Epontol^{R} (ohne Prämedikation mit Atropin) fällt der mittlere Blutdruck ab, wie es bereits mehrere Autoren beschrieben haben (22,26,35,66). Ferner konnte ein Abfall des pH-Wertes des Magensaftes, sowie eine Zunahme

Art	Pyridoxalphosphat= zusatz (M)	Aktivierung in %
Mensch	$3{,}13 \times 10^{-5}$	55
Schwein	$3{,}13 \times 10^{-5}$	220
Kaninchen	$1{,}25 \times 10^{-5}$	110
Ratte	$6{,}25 \times 10^{-5}$	100

Tab. 5

Aktivierung der spezifischen Histidindecarboxylase in der Magenschleimhaut von Mensch, Schwein, Kaninchen und Ratte durch Pyridoxal-5-Phosphat.

Inkubationsbedingungen s. Methodik und Tab. 1, pH-Werte Abb. 4 a,b, Substratkonzentrationen Tab. 4. Zusatz von Pyridoxal= phosphat in Konzentrationen, die eine maximale Aktivierung hervorrufen.

Enzymmaterial	spez. Aktivität		Gesamtaktivität in %	
	Magen	Niere	Magen	Niere
Rohhomogenat	6,0 (0)	40 (0)	100	100
1. Überstand (1800 x g)	7,5 (1,25)	45 (1,13)	100	80
2. Überstand (10^5 x g)	15,7 (2,6)	78 (1,95)	90	70
Sephadex G 100	132 (22)	490 (12,3)	7o	60

Tab. 6

Anreicherung der spezifischen Histidindecarboxylase des Meerschweinchenmagens und der unspezifischen Histidindecarboxylase der Meerschweinchenniere durch Ultrazentrifugation und Gelfiltration an Sephadex G 100.

Spezifische Aktivität in pmol Histaminzuwachs/min und mg Protein
Gesamtaktivität des Rohhmogenats wird als 100 % angegeben, der Anreicherungsfaktor ist in Klammern beigefügt.

des Histamingehaltes im Gesamtblut nachgewiesen werden (Abb. 7). Der Histaminspiegel ist 10 - 20 min nach der Injektion um 30% erhöht ($p < 0,05$). Bereits nach 3 und 6 min steigt er an, nach 30 min ist er noch erhöht, wenn auch nicht mehr signifikant.

Schon nach 6 min fällt der pH-Wert des Magensaftes signifikant ab ($p < 0,01$), nach 10 und 20 min ist er hochsignifikant erniedrigt ($p < 0,005$). Die Säuremenge ist bereits nach 3 min signifikant vermehrt (Tab. 7).

Die Basalsekretion lag bei den Probanden ohne vorherige Atropingabe mit 0,02 mval/min verhältnismäßig niedrig. Die Durchschnittswerte der stimulierten Sekretion nach Epontol^{R}-Injektion, errechnet aus einer durchschnittlichen Säuremenge von 0,16 mval/min während der 1/2 Stunde des Versuchs, entsprechen 9,6 mval/Std., also einer halbmaximalen Magensaftsekretion (8). Da die Änderungen der Aktivität und Säuremenge des Magensaftes und die des Bluthistamingehaltes übereinstimmen, muß die Freisetzung von Histamin durch Epontol^{R} als erwiesen angesehen werden.

Die Injektionsarten des Epontol^{R} unterscheiden sich in folgenden Merkmalen:

a) Die Schußinjektion verstärkte die Histaminfreisetzung bei Probanden erheblich, die nach einer "20 sec-Injektion" nur eine geringe Zunahme des Histaminspiegels

Zeit (min nach Injektion)	Säuremenge (mval/min)	Signifikanz
0	$0{,}02 \pm 0{,}004$	
3	$0{,}14 \pm 0{,}04$	0/3 $p < 0{,}005$
6	$0{,}17 \pm 0{,}05$	0/6 $p < 0{,}005$
10	$0{,}18 \pm 0{,}03$	0/10 $p < 0{,}001$
20	$0{,}19 \pm 0{,}03$	0/20 $p < 0{,}001$
30	$0{,}10 \pm 0{,}03$	0/30 $p < 0{,}005$

Tab. 7. Säuremenge des Magensaftes in mval/min nach i.v. Verabreichung von 7 mg/kg Epontol^{R}. Bedingungen s. Methodik. Mittelwerte ± σ, Signifikanzbestimmung nach dem Student-t-test.

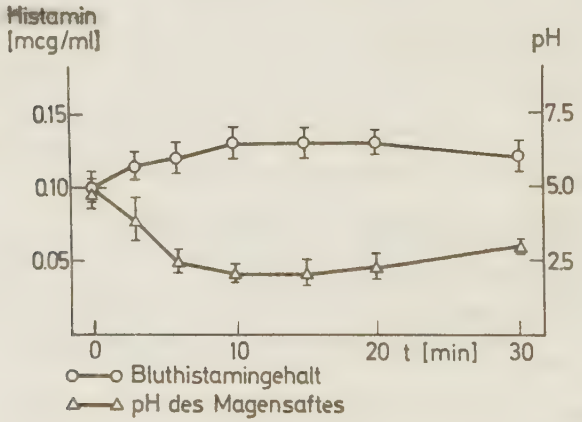

Abb. 7. Histamingehalt des Blutes und pH-Wert des Magensaftes nach Epontol^{R}-Injektion. Histamingehalt in mcg Histamindihydrochlorid/ml Gesamtblut. Mittelwerte ± Standardabweichung. Epontol^{R} 7 mg/kg, Injektionsvolumen 10ml/500 mg Propanidid. Sonstige Bedingungen s. Methodik.

aufwiesen.

b) Die i.v. Injektion von 0,5 mg Atropin 15 min vor der Epontol^{R}-Narkose beeinflußte die Histaminfreisetzung nur geringfügig. Auch die Magensaftsekretion wurde nur wenig vermindert. Trotz Gabe eines starken Parasympathikolyticums verursacht somit endogen freigesetztes Histamin eine beträchtliche Magensaft- und Säuresekretion: ein Argument, das für die Rolle von Histamin als "finalem Chemostimulator" der physiologischen Sekretion und Säurebildung im Magen spricht.

2.2. Einfluß des Lösungsvermittlers Cremophor El auf die Histaminfreisetzung.

Lange Zeit ist Cremophor El als Ursache der Blutdrucksenkung und einer möglichen Histaminfreisetzung angesprochen worden (96). Diese Ansicht beruht auf dem Analogieschluß, daß Netzmittel wie beim Hund (34) so auch beim Menschen zu einer Histaminfreisetzung führen könnten. Das trifft nicht zu. Der Blutdruck zeigte nach i.v. Injektion von Cremophor El keine signifikante Abnahme, der Histamingehalt des Blutes und der pH-Wert des Magensaftes waren nicht signifikant verändert (Abb.8). Die Histaminfreisetzung erfolgt somit durch Propanidid oder auch, was noch nicht auszuschließen ist, teilweise durch einen Metaboliten des Propanidids.

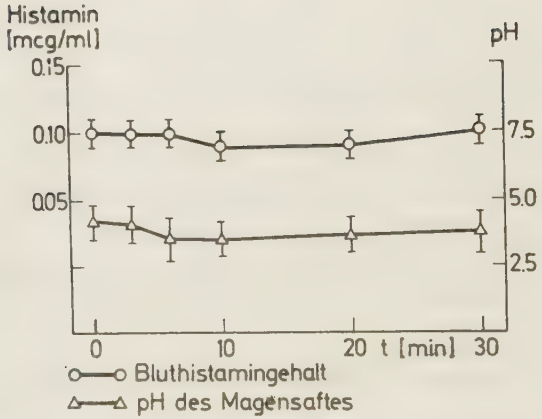

Abb. 8

Histamingehalt des Blutes und pH-Wert des Magensaftes nach Injektion von Cremophor-El. Histamingehalt in mcg Histamin= dihydrochlorid/ml Gesamtblut. Mittelwert ± Standardabweichung. 10 ml Cremophor/Injektion. Sonstige Bedingungen s. Methodik.

IV. DISKUSSION

1.1. Zur physiologischen Bedeutung der spezifischen Histidindecarboxylase der Magenschleimhaut.

Alle wichtigen Argumente, die für eine physiologische Rolle des Histamins bei der Magensaft- und Säuresekretion sprechen, wurden bisher fast ausschließlich an der Ratte erarbeitet: Adäquate Lokalisation, Stoffwechsel, Freisetzung und Induktion der Histaminbildung während der Sekretionsprozesse; Blockierung der Sekretion durch Hemmstoffe der spezifischen Histidindecarboxylase, durch Infusion von Diaminoxydase und durch Verabreichung von Histaminkomplexbildnern (54). Deshalb kann die Theorie von Histamin als physiologischem Chemostimulator der Magensaft- und Säuresekretion auch nur bei der Ratte als abgesichert gelten (54), bei allen anderen Arten hat sie zunächst nur den Wert einer Hypothese. Da die Ratte außerdem im Histaminstoffwechsel und im Verhalten gegenüber Histamin in vielerlei Hinsicht eine Ausnahmestellung einnimmt (20), ist die Übertragung von Ergebnissen, die bei dieser Spezies gewonnen wurden, auf andere Arten oder gar auf den Menschen nur beschränkt möglich. Der Nachweis spezifischer Histidindecarboxylasen in der Magenschleimhaut des Menschen und zahlreicher Säugetiere ist deshalb in dreifacher Hinsicht von großer Bedeutung: Die Hypothese vom Histamin als physiologischem Chemostimulator der Magensaft- und Säuresekretion hat an Wahrscheinlichkeit gewonnen.

Die Bestimmung der spezifischen Histidindecarboxylase bei pathologischen Prozessen der Magenschleimhaut, vor allem beim Magen- und Duodenalulcus, eröffnet einen neuen Zugang zur Pathochemie und Pathophysiologie dieser Erkrankungen.

Eine vergleichende Biochemie, Pharmakologie und Physiologie des Histamins im Magen erscheint dringend erforderlich. Die Ergebnisse dieser Arbeit sollen hierzu einen ersten Beitrag liefern. Weitere Untersuchungen in dieser Hinsicht betreffen Lokalisation (62) und Inaktivierung (45) des Histamins in der Magenschleimhaut. Die Befunde stützen die Hypothese, daß Histamin ein universeller "finaler Chemostimulator" (20) der Magensaft- und Säuresekretion ist.

1.2. Induktion und Adaptation.

Biochemisch ist die spezifische Histidindecarboxylase vor allem aus zwei Gründen von Interesse:

a) Durch physiologische Vorgänge, wie Magensaftsekretion und Salivation, ist das Enzym äußerst rasch "induzierbar". Im Rattenmagen konnte eine Aktivitätssteigerung bereits eine halbe Stunde nach Sekretionsstimulierung nachgewiesen werden (42). Diese wurde durch Puromycin und Cycloheximid verhindert, nicht aber durch Aktinomycin D (57,84). Da als Ursache der Aktivitätssteigerung ein vermehrtes Angebot an Coenzym und Substrat sowie eine Änderung von K_m ausgeschlossen wurde

(57,60), darf die Induktion der spezifischen Histidindecarboxylase infolge gesteigerter ribosomaler Proteinsynthese als wahrscheinlich angesehen werden. Wenige Enzyme, z.B. die Tryptophanpyrrolase (21), sind ähnlich rasch induzierbar.

b) Die Zunahme der Aktivität der spezifischen Histidindecarboxylase erwies sich beim Rattenmagen (42) und bei der Glandula submandibularis des Hundes (56,58) als adaptiv: zwischen Histaminfreisetzung und Zunahme der Neubildung von Histamin besteht eine hochsignifikante Korrelation (58). Umgekehrt nimmt nach der Auffüllung der Histaminspeicher die Aktivität des Enzyms wieder bis zum Ausgangswert ab; deshalb wurde ein negativer Rückkoppelungsmechanismus postuliert (42). Überprüfung und Sicherung dieser Befunde an den hier nachgewiesenen Histidindecarboxylasen erscheint von Bedeutung.

1.3. Isoenzyme

Weissbach et al. (89) unterschieden auf Grund verschiedener Eigenschaften zwei Enzymtypen von Histidindecarboxylasen. Die spezifische Histidindecarboxylase: Substrat nur L-Histidin, pH-Optimum 7,0, relativ niedrige K_m (10^{-7} - 10^{-4} M), Hemmung durch α-Methylhistidin, nicht aber durch α-Methyldopa und fehlende Aktivierung durch Benzol. Die unspezifische Histidindecarboxylase: Substrate alle natürlich vorkommenden aromatischen

L-Aminosäuren, pH-Optimum 8,0, relativ hohe K_m (10^{-2} - 10^{-1} M), Hemmung durch α-Methyldopa, nicht aber durch α-Methylhistidin und Aktivierung durch Benzol. Verschiedene inzwischen nachgewiesene Histidindecarboxylasen zeigen aber Abweichungen von diesen beiden Typen, besonders hinsichtlich pH-Optimum und K_m, sodaß die Existenz von Isoenzymen angenommen wurde (32), die jeweils dem einen oder anderen Enzymtyp zugeordnet werden konnten. Die hier nachgewiesenen sog. spezifischen Histidindecarboxylasen der Magenschleimhaut haben zwar ausnahmslos eine relativ niedrige Michaeliskonstante, doch differiert sie von Art zu Art bis über eine Zehnerpotenz. Auch zeigen sie alle ein pH-Optimum von 7,0, wobei das der Nagerenzyme eindeutig mehr im sauren pH-Bereich liegt, als das der übrigen Spezies. Daher erscheint die Annahme von Isoenzymen des Typs der spezifischen Histidindecarboxylase berechtigt. Auch die unspezifische Histidindecarboxylase weist solche Isoenzyme auf (60,95). Die Unterscheidung von spezifischer und unspezifischer Histidindecarboxylase oder, nach anderen Autoren, von Histidindecarboxylase und Dopadecarboxylase, die nur in vitro, aber nicht in vivo Histidin decarboxylieren soll, ist inzwischen besonders hinsichtlich der Substratspezifität so fragwürdig geworden (55,60,95), daß eine Änderung der Nomenklatur geboten erscheint.(61).

2. Zur Histaminfreisetzung bei Anwendung des Kurznarkotikums Propanidid.

a) bei Epontol^{R}-Narkosen sollte zur Prämedikation neben Atropin ein Antihistaminikum verwendet werden, wenn der Patient Anzeichen einer "allergischen Diathese" zeigt oder an Krankheiten leidet, die einen erhöhten Bluthistaminspiegel vermuten lassen (z.B. bei Leukosen, Erythro- und Thrombozythämien, Urticaria pigmentosa, Verbrennungen und unter Röntgenbestrahlungen).

b) Die Schußinjektion ist zu vermeiden (23).

3. Entwicklung eines Modells über den Wirkungsmechanismusvon Histamin bei der Magensaftsekretion.

Wie oben ausgeführt, konnte noch nicht vollständig bewiesen werden, daß Histamin beim Menschen der finale Chemostimulator der Magensaftsekretion ist. Jedoch hat sich die Wahrscheinlichkeit dieser Hypothese durch die Untersuchungen von Lorenz (60) so vergrößert, daß der Aufbau einer Modellvorstellung über die Mediatorwirkung des Histamins bei diesen Vorgängen angebracht erscheint (Abb.9).

a) Azetylcholin, Gastrin und exogenes bzw. endogenes Histamin, das in der Körperperipherie freigesetzt wurde (z.B. durch Epontol^{R}), liberieren Histamin aus den "atypischen Mastzellen".Letzteres regt dann die Belegzellen zur Magensaftsekretion an.

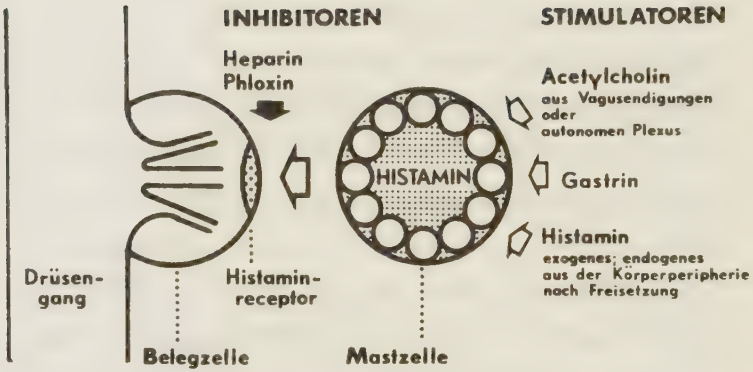

Abb. 9

Schema der Mediatorfunktion von Histamin als finalem Chemostimulator der Magensaft- und -säuresekretion.

b) Exogenes Histamin könnte teilweise auch direkt, also auch ohne Freisetzung des Mastzellhistamins, die Belegzellen stimulieren, da die Diaminoxydase im Magen aller untersuchten Arten nur eine sehr geringe Aktivität zeigt oder sogar völlig fehlt (54). Doch haben Johnson et al. 1966 die Speicherung von exogenem Histamin und nachfolgende Freisetzung sicher nachgewiesen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Nachweis, Lokalisation und Eigenschaft der Histidin decarboxylase der Magenschleimhaut.

Verbesserungen der bisherigen Bestimmungsmethoden der spezifischen Histidindecarboxylase führten zum erstmaligen Nachweis beträchtlicher Aktivitäten dieses Enzyms in der Magenschleimhaut von Mensch, Affe, Schwein, Rind, Hund, Katze, Meerschweinchen, Kaninchen und Ratte. Auch im Magencarcinomgewebe des Menschen konnte das Enzym nachgewiesen werden. Durch Ermittlung von pH-Optima, Substratoptima, Michaeliskonstanten, Verhalten gegenüber α-Methyldopa, α-Methylhistidin, Benzol und Pyridoxal-5'-Phosphat wurden die nachgewiesenen Histidindecarboxylasen eindeutig als spezifische Histidindecarboxylasen charakterisiert. Die spezifische Histidindecarboxylase des Meerschweinchenmagens wurde durch Ultrazentrifugation (100.000xg) und Gelfiltration an Sephadex G 100 22fach angereichert.

Der Nachweis von spezifischen Histidindecarboxylasen (Isoenzymen) in der Magenschleimhaut zahlreicher Arten ist von großer physiologischer und pathologischer Bedeutung. Die Induzierbarkeit und Adaptation dieser Enzyme verdient besonderes Interesse. Probleme der Nomenklatur von Histidindecarboxylasen werden diskutiert.

2. Histaminfreisetzung durch Propanidid.

Anhand von Blutdruckabfall, Magensaftstimulierung und

Zunahme des Bluthistamingehaltes wird bewiesen, daß Epontol^{R} beim Menschen Histamin freisetzt. Cremophor El, der Lösungsvermittler des Propanidids, konnte als Ursache der Histaminfreisetzung ausgeschlossen werden. Atropin verhindert weder die Histaminfreisetzung noch die Wirkung auf die Magensaftsekretion. Histamin stimuliert die Magensaftsekretion direkt und ohne Vermittlung durch Acetylcholin. Bei Epontol^{R}-Narkosen wird neben Atropin und bei entsprechender Disposition die Verabreichung eines Antihistaminikums empfohlen. Schußinjektion ist zu vermeiden.

Literaturverzeichnis

1) Ackermann, D.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 65, 504 (1910)

2) Alivisatos, S.G.A., F. Ungar, L. Lukacs und L. La Mantia. J. biol. Chem. 235, 1742 (1960)

3) Alivisatos, S.G.A.: Histamine-pyridine coenzyme interactions. In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. 18/1, S. 726. Berlin-Heidelberg-New York. Springer 1966

4) Amure, B.O. and M. Ginsburg: Inhibitors of histamine catabolism and the action of gatsrin in the rat, Brit. J. Pharmacol. 23, 476 (1964)

5) Aures, D., and W.G. Clark: Histamine formation in vitro and in vivo. Persönliche Mitteilung

6) Awapara, J.,.T.L. Perry, C. Hanly and E. Peck: Substrate specifity of dopa decarboxylase. Clin. chim. Acta 10, 286 (1964)

7) Babkin, B.P.: Secretory mechanisms of the digestive glands, S 289. New York: P.B. Hoeber (1950)

8) Bank, S., I.N. Marks, J.H. Louw and O.A.A. Bock: Recent advances in gastroenterology. Proc. 3. World Congress of Gatsroenterology, Bd. 1, p. 399-403, Basel: Karger 1967

9) Barger, G., and H.H. Dale: J. Physiol. (Lond.) 40, 38 (1910)

10) Beaven, M.A., Z. Horakova, H.D. Johnson, F. Erjavec and B.B. Brodie: Selective Labeling of histamine in rat gastric mucosa. Fed.Proc. 26, 233 (1967)

11) Bernauer, W., H. Giertz u. F. Hahn: Histamineffekte am Herz-Lungenpräparat des Meerschweinchens. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 250, 176 (1965)

12) Bernauer, W. und B. Lange: Untersuchungen über die antihistaminrefraktäre Histaminwirkung am Meerschweinchenherzen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. path. Pharmakol. 251, 178 (1965)

13) Best, C.H. and E.W. Mc Henry: Inactivation of histamine. J. Physiol. (Lond.) 70, 349 (1930)

14) Blair, E.L.: The question of release of histamine by gastrin. In: Gastrin (ed. M.I. Grossman), UCLA forum in med. science 1966 p. 255-284

15) Brown, D.D., R. Tomschik and J. Axelrod: The distribution and properties of a histamine-methylating enzyme. J. biol. Chem. 234, 2948 (1959)

16) Buffoni, F.: Histaminase and related amine oxidases. Pharmacol. Rev. 18, 1163 (1966)

17) Burkhalter, A., Biochem.Pharmacol., 11, 315 (1962)

18) Code, C.F.: Histamine and gastric secretion. Ciba foundation symposium on histamine, p. 189. London: I. & A. Churchill 1956

19) Code, C.F. and G.A. Hallenbeck, J. Physiol.(London) 159, 66 (1961)

20) Code, C.F.: Histamine and gastric secretion: a later lokk 1955-1965. Fed. Proc. 25, 1311 (1966)

21) Conney, A.H., Pharmakol. Rev. 19, 317 (1967)
E. Knox and V.H. Auerbach: J. Biol.Chem., 214, 307 (1955). K. Yamazucki, M. Shimoyama and R.K. Gholson: Biochem. Biophys. Acta (Amsterdam) 146, 102 (1967)

22) Doenicke, A. und W. Spiess: Acta anaesth. scand., Suppl. 17, 53 (1965)

23) Doenicke, A., I. Krumey, J. Kugler und J. Klempa: Brit. J. Anaesth. 40, 415 (1968)

24) Dotevall, G., S.E. Lindell and H. Westling: Histamine studies in a case of Zollinger-Ellison's Syndrome. Acta med. scand. 174, 325 (1963)

25) Dworetzky, M., C.F. Code: Passage of histamine across the wall of bowel. Amer. J. Physiol. 166, 462 (1951)

26) Eger, W., In: Die intravenöse Kurznarkose mit dem neuen Kurznarkotikum Propanidid, S. 236, Berlin-Heidelberg-New York, Springer (1965)

27) Emmelin, N. und G. Kahlson: Acta physiol. scand. 8, 289 (1944)
---- und F. Wicksell: Acta physiol. scand. 2, 123 (1941)

28) Feldberg, W.: Ciba foundation symposium on histamine, p. 4, London. I. & A. Churchill 1956

29) Gregory, R.A. and H.J. Tracy: The preparation and properties of gastrin. J. Physiol. (London) 156, 523 (1961)

30) Grossman, M.I., C.R. Robertson: Histamine and gastric secretion. Amer. J. Physiol. 153, 447 (1948)

31) Håkanson, R., Biochem. Pharmakol. 12, 1289 (1963)

32) Håkanson, R., Europ. J. Pharmakol. 1, 34 (1964)

33) Håkanson, R., Europ. J. Pharmakol. 1, 383 (1967)

34) Halpern, B.N.: Histamine release by long chain molecules. In: Ciba foundation symp. on histamine (ed. Wolsten-Holme und O'Connor), p. 92, London: I. & A. Churchill 1956

35) Henschel, W.F. und G. Buhr: In: Die intravenöse Kurznarkose mit dem neuen Ultrakurznarkotikum Propanidid, S. 227. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1965

36) Hiltmann, R., H. Wollenweber und F. Hoffmeister: In: Die intravenöse Kurznarkose mit dem neuen Ultrakurznarkotikum Propanidid, S. 1, Berlin-Heidelberg-New York 1965

37) Holtz, P. und R. Heise: Über Histaminbildung im Organismus. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 186, 377 (1937)

38) Ito, R., T. Ito and K. Nakazawa: Studies on histamine transamination. Nippon Univ. J. Med. 2, 259 (1960)

39) Ivy, A.C., W.H. Bachrach: Physiological significance of the effect of histamine on gastric secretion, in histamine and antihistaminics. In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie (Hrsg. Farah und Eichler), Bd. 18/1, S. 810-891. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966

40) Johnson, H.L., M.A. Beaven, F. Erjavec and B.B. Brodie: Selective labeling and release of non mastcell histamine. Life Sci. 5, 115 (1966)

41) Kahlson, G., E. Rosengren, D. Svahn and R. Thunberg: Increased formation of histamine in the gastric mucosa elicited by gastrin and food intake. J. Physiol. (London) 167, 45 (1963)

42) Kahlson, G., E. Rosengren, D. Svahn and R. Thunberg: Mobilisation and formation of histamine in the gastric mucosa as related to acid secretion. J. Physiol. (London) 174, 400 (1964)

43) Kobayashi, Y. and A.C. Ivy: Histamine metabolizing activity of dogs stomach and intestine. Amer. J. Physiol. 195, 525 (1958)

44) Kobayashi, Y. and A.C. Ivy: Histamine metabolizing activity of the stomach and intestine of the rat. Amer. J. Physiol. 196, 835 (1959)

45) Kusche, J., W. Lorenz, H. Hahn und E. Werle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exper. Path.Pharmakol. (in press)

46) Levine, R.J.: Effect of histidine decarboxylase inhibition on gastric acid secretion in the rat. Fed. Proc. 24, 1331 (1965)

47) Lick, R.F., H. Welsch, W. Hart, W. Bruckner und K. Bennewitz: Hypercalcämie und Magensekretion. Z. Gastroenterologie 4, 225 (1966)

48) Lindberg, S., S.E. Lindell and H. Westling: Formation and inactivation of histamine by human fetal tissues in vitro. Acta obste. gynec. scand. 42, 49 (1963)

49) Lindell, S.E. and H. Westling:Histamine metabolism in man, in Histamine and Antihistaminics. In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie (Hrsg. Farah u. Eichler) Bd. 18/1, S. 736 Berlin-Heidelberg-New York, Springer 1966

50) Lineweaver, H. and D. Burk, J. Amer. Chem.Soc. 56, 658 (1934)

51) Lorenz, W., K. Pfleger und E. Werle: Histamin und Histidindecarboxylasen im oberen Verdauungstrakt von Mensch, Hund, Meerschweinchen und Ratte. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 258, 150 (1967)

52) Lorenz, W., K. Pfleger und E. Werle: Über das Vorkommen von Histamin und Histidindecarboxylasen im oberen Verdauungstrakt und seine Beeinflussung durch antithyreoidale Substanzen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 257, 38 (1967)

53) Lorenz, W. und E. Werle: Zur Bestimmung der spezifischen Histidindecarboxylase. Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 348, 319 (1967)

54) Lorenz, W. und K. Pfleger:Klin. Wschr. 46 57 (1968)

55) Lorenz, W., K. Pfleger und E. Werle: Biochem. Pharmacol. 17, 539 (1968)

56) Lorenz, W., St. Heitland, A. Schauer, H. Gastpar und E. Werle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 259, 319 (1968)

57) Lorenz, W., M. Gerant und E. Werle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 260, 171 (1968)

58) Lorenz, W., G. Haubensack, M. Hutzel und E. Werle. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. 260, 416 (1968)

59) Lorenz, W., H. Haendle, K. Reichel, G. Feifel u. E. Werle: Münch. med. Wschr. 110, 466 (1968)

60) Lorenz, W. Habilitationsschrift, Universität München 1969

61) Lorenz, W. und E. Werle: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics. Pergamon Press (in Druck)

62) Lorenz, W., A. Schauer, St. Heitland, E. Matejka und E. Werle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. (in press)

63) Noordwiyk, J. and P.N. Aarsen: Acid gastric secretion in the rat and its inhibition by phloxin. Brit. J. Pharmacol. 9, 253 (1954)

64) Pisano, J.J., C. Mitoma and S. Udenfriend: Nature (London) 180, 1125 (1957)

65) Pletscher, A., K.F. Gey u. P. Zeller: Monoaminoxydasehemmer. Fortschr. Arzneimittelforsch. 2, 417 (1960)

66) Podlesch, I. u. M. Zindler: In: Die intravenöse Kurznarkose mit dem neuen Ultrakurznarkotikum Propanidid, S. 160, Berlin-Heidelberg-New York, Springer 1965

67) Radwan, A.G. u. G.B. West: Brit. J. Pharmacol. 30, 392 (1967)

68) Schayer, R.W.: Catabolism of physiological quantities of histamine in vivo. Physiol. Rev. 39, 116 (1959)

69) Schayer, R.W.: Catabolism of histamine in vivo, in Histamine and Antihistaminics. In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. 18/1, S. 672. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966

70) Schayer, R.W. and E. Sestokas: Suppression of histamine synthesis in guinea pig by -Methyl-3,4-dihydroxyphenylalanin. Biochim. biophys. Acta (Amsterdam) 111, 557 (1965)

71) Schayer, R.W.: Histidindecarboxylase of rat stomach and other mammalian tissues. Amer. J. Physiol. 189, 533 (1957)

72) Schayer, R.W. and S.A. Karjala: Ring N-methylation, a major route of histamine metabolism. J. biol. Chem. 221, 307 (1956)

73) Schayer, R.W.: The metabolism of histamine in various species. Brit, J. Pharmacol. 11, 472 (1956)

74) Schayer, R.W. and A.C. Ivy: Evidence that histamine is a gastric secretory hormone in the rat. Amer. J. Physiol. 189, 369 (1957)

75) Schayer, R.W. and A.C. Ivy: Release of ^{14}C-histamine from stomach and intestine on feeding. Amer. J. Physiol. 193, 400 (1958)

76) Schievelbein H. und E. Werle, unter Mitarbeit von W. Lorenz: Histidindecarboxylase. In: Hoppe-Seylers Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, Bd. 60, S.515 (1966)

77) Schuler, W.: Experientia (Basel) 8, 230 (1952)

78) Sewing, K.F.: Die Bedeutung von Gastrin in der Magensaftsekretion. Dtsch. med. Wschr. 91, 1506 (1966)

79) Shore, P.A., A. Burkhalter and V.H. Cohn jr.: J. Pharmakol. exp. Therap. 127, 182 (1959)

80) Sjaastad, O.: Urinary excretion of free and conjugated histamine in healthy individuals. Scand. J. clin. Lab. Invert. 18, 1 (1966)

81) Skidmore, I.F. und M.W. Whitehouse: Biochem. Pharmacol. 15, 1965 (1966)

82) Snyder, S.H., J. Axelrod and H. Bauer: The fate of ^{14}C-histamine in animal tissues. J. Pharmakol. exp. Therap. 144, 373 (1964)

83) Snyder, S.H. and J. Axelrod: Tissue metabolism of histamine-^{14}C in vivo. Fed. Proc. 24, 774)1965)

84) Snyder, S.H. and L. Epps: Histidine decarboxylase in rat stomach: mechanism of its activation by gastrin. Fed. Proc. 26, 786 (1967)

85) Stubrin, M.J., B. Dyce, T. Brem. L.B. Tecimer and B.J. Haverback: The effect of gastric secretagogues and gastric tissue histamine. Amer. J. dig. Dis. 1o, 901 (1965)

86) Tabor, H.: In vitro metabolism of histamine (exclusive of diamine oxydase). In: Histamine and Antihistaminics, Handbuch der eperimentellen Pharmakologie, Bd. 18/1, S. 684,Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966

87) Thunberg, R.: Exp. Cell. Res. 47, 108 (1967)

88) Waton, N.G.: Brit. J. Pharmacol. 11, 119 (1956)

89) Weichselbaum, T.E.: Amer. J. Clin. Path. 1o, 40 (1946)

90) Weissbach, H., W. Lovenberg and S. Udenfriend: Characteristics of mammalian histidine decarboxylating enzymes. Biochim. Biophys. Acta (Amsterdam) 50, 177 (1961)

91) Werle, E.: Nachweis von Histidindecarboxylase. Biochem. Z. 288, 292 (1936)

92) Werle, E. und H. Herrmann: Über die Bildung von Histamin aus Histidin durch tierische Gewebe. Biochem. Z. 291, 105 (1937)

93) Werle, E.: Zur Kenntnis der Histidindecarboxylase und der Histaminase. Biochem. Z. 304, 201 (1940)

94) Werle, E. und W. Lorenz: Histamin und Histidindecarboxylase in Speicheldrüsen und Magengewebe. Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 338, 251 (1964)

95) Werle, E. und W. Lorenz: Biochem. Pharmacol. 15, 1059 (1966)

96) Wirth, W. und F. Hoffmeister: In: Die intravenöse kurznarkose mit dem neuen Ultrakurznarkotikum Propanidid, S. 17. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1965

97) Zatman, L.I., N.O. Kaplan und S.P. Colowick: J. Biol. Chem. 200, 197 (1953)

Herrn Prof. Dr. Dr. E. Werle und Herrn Privatdozent Dr. W. Lorenz möchte ich meinen Dank für die Überlassung des Themas sowie für die bereitwillige Betreuung der Arbeit im Labor aussprechen.

Lebenslauf:

Als erster Sohn des Dr. ing. Dr. med. E. H. Halbach und seiner Ehefrau Ursula, geb, Buehl, am 17. 2. 1943 in München geboren.

1949 Eintritt in die Volksschule Prien/Chiemsee.

1956 - 57 Besuch des College Protestant Romand in Coppet, Vaud, Schweiz.

1963 Abitur am Humanistischen Gymnasium Traunstein.

1964 Beginn des Medizinstudiums an der Universität München.

1967 Physikum an der Universität München.

1970 beabsichtige ich das medizinische Staatsexamen an der Universität München abzulegen.